动 物 学 研 究 1996, 17 (3): 295—299 CN 53-1040／Q ISSN 0254-5853
Zoological Research

源真核生物蓝氏贾第虫核分裂的初步观察*

沈剑钊 李靖炎** 卢思奇
（首都医科大学寄生虫学教研室 北京 100054）
（**中国科学院昆明动物研究所分子与细胞进化开放研究实验室 昆明 650223）

摘要 贾第虫属于源真核生物（Archezoa）中的双滴虫门，是目前所知的最低等的真核生物。本工作首次对蓝氏贾第虫（*Giardlia lamhla*）的核分裂作了初步的电镜观察，未能在分裂着的核中见到纺锤体或纺锤体微管。以 0.1—20 μg／ml 浓度的秋水仙素作实验，其核分裂也不受阻抑。以抗微管蛋白的多抗作免疫荧光检查，也未见分裂着的核中有微管蛋白。这似乎意味着其核分裂方式乃是前有丝分裂性质的。对此进行了讨论。

关键词 贾第虫，核分裂，纺锤体，微管蛋白，秋水仙素；蓝氏贾第虫；源真核生物

随着原生生物细胞生物学与分子生物学研究的发展，80 年代从原生生物中分离出一个特别原始的大类群——源真核生物（Archezoa，希腊文字头 arche 为“开端的”之意）(Cavalier-Smith, 1987, 1989)，它们没有线粒体及典型的高尔基氏器，核糖体也仍然跟原核生物的一样是 70S 型。从 rRNA 的分子进化（Sogin, 1989；李靖炎，1992）和细胞核的特性看（李靖炎，1996)，双滴虫类又是源真核生物中最原始的。此点在研究双滴虫类的核分裂、认识有丝分裂的起源和演化上将是极其重要的。但是在文献上，有关双滴虫类的核分裂研究，过去几乎都是在光学显微镜下完成的。由于双滴虫类的细胞核微小，其研究的精确性是可疑的。

我们以纯培养的蓝氏贾第虫的滋养体作为双滴虫类的代表，对其核分裂过程进行了初步的常规电镜检查和免疫荧光显微镜检查。蓝氏贾第虫有两个细胞核，每个核的体积尚不足 0.5 μm^3。在这种情况下，不作电镜观察，而只凭光学显微镜的检验，显然是弄不清问题的。因此，必须进行电镜观察。此外，我们还配合作了其他的检验。

1 材料与方法

蓝氏贾第虫 SICH／89／BTMR1(C2)株，按前人介绍的方法（祝虹等，1992）将保存于液氮内的贾第虫（*Giardia lamblia*）纯培养滋养体复苏，用改良的 TY1-S-33 培养基连续传代。不采用“冰浴法”收集虫体，而采用常温下用力振荡培养管，使虫体从管壁脱

* 本工作得到国家自然科学基金的资助
** 本文通讯作者
本文 1995 年 7 月 7 日收到、同年 11 月 28 日修回

落，再离心收集虫体。

电镜观察：按常规用戊二醛与锇酸作双固定，Epon812包埋，超薄切片，醋酸铀与柠檬酸铅双染。

不同梯度浓度的秋水仙素对贾第虫核分裂的影响观察：

贾第虫组：取7小管（4ml）处于对数生长期的贾第虫，加入已过滤除菌的秋水仙素，使培养基中的秋水仙素终浓度分别为0、0.1、0.5、1、5、10和20 μg／ml，置37℃恒温箱中培养12—13 h，取出观察其生长情况。观察后更换预热至37℃的新鲜培养基，继续培养，每半小时观察一次生长情况，共观察2—3 h。

对照组：取两瓶传代后处于对数生长期的Hela细胞，一瓶不加秋水仙素，另一瓶加入秋水仙素使其终浓度为0.1 μg／ml，10 h后观察其生长情况。然后换取新液，放入37℃培养箱中培养，继续观察其生长情况。

贾第虫分裂期核内微管蛋白的间接免疫荧光检查：

贾第虫与一抗（兔抗，1∶3稀释）和二抗（羊抗兔IgG，1∶10稀释）结合后，在OLYMPUS荧光显微镜下观察。为了进一步确认抗微管蛋白抗体的活性，同时以同步化的Hela细胞作为对照。

2 结 果

2.1 电镜观察

贾第虫的核分裂与其他许多原生生物的相似，都是核被膜始终存在，核变长，中部缢束，最后拉成两个。图1：A—C大体上可以代表其核分裂过程的几个阶段。最后贾第虫的大小相等、性质相同的两个核分裂成4个细胞核（图1：D）。

贾第虫核分裂的重大特点之一是无浓聚的典型中期染色体出现。此点与锥体虫类的核分裂相似。在间期核中有时可看到异染色质贴附在核被膜上，在分裂着的核中也同样是如此。

但是贾第虫核分裂的最大特点可能是没有纺锤体的形成和参与。我们始终没有在任何分裂着的核中见到有纺锤体存在，连构成纺锤体的微管结构也未曾在核内见到过。细胞质中也未曾见到纺锤体。

2.2 秋水仙素试验

如果贾第虫的核分裂中真的没有纺锤体形成，则作用于纺锤体的秋水仙素应该对之没有任何阻抑作用。

为此，我们用秋水仙素作了试验，使培养基中秋水仙素的最终浓度达0.1 μg／ml至20 μg／ml，作用12 h（蓝氏贾第虫的整个细胞周期长约15 h）。结果贾第虫的分裂并未受到任何阻抑。与此同时，作为对照的Hela细胞的分裂，只要受到0.1 μg／ml浓度的秋水仙素作用，即被抑制。

2.3 免疫荧光检查

核分裂过程中纺锤体的有无还可以通过抗微管蛋白的抗体所作的免疫荧光显微镜检查来加以检验。检查结果表明，在迅速繁殖的贾第虫群体中，细胞质与鞭毛都呈阳性反应，表明抗体是有效的。但是细胞核全都呈阴性反应，看不到核中有发亮的可以怀疑是纺锤体的结构（图1：E）。在作为对照的分裂中的Hela细胞内，纺锤体是呈强阳性反应的。



图 1 蓝氏贾第虫核分裂的观察

Fig.1 The preliminary study on the nuclear division of the archzoan, *G. lamblia*

3 讨 论

从我们所作的 3 个方面的检查结果看，贾第虫在核分裂过程中并没有纺锤体形成。这意味着在它们的核分裂过程中，子染色体的分离是依靠着某种非纺锤体的机制来完成的。关于这种非纺锤体的子染色体分离机制的存在，KuBai（1973）在一种多鞭毛虫——披发虫的核分裂研究中，就已经揭示得很清楚。她对披发虫的核分裂过程所作的连续超薄切片立体复原研究，无可置疑地证明了，在成对的子染色体还没有跟微管发生联系的阶段，就已经发生了子染色体的分离运动。这种分离只能归因于子染色体所联系着的核被膜的生长。只是在稍晚的时候，子染色体与微管建立起了联系，纺锤体机制才得以发生作用。

上述的非纺锤体的子染色体分离机制发生得更早，并且更原始。因为与原核生物依靠质膜的生长而使两个子类核体分离开来的机制有着联系（李靖炎，1979）。在高等真核生

物的典型有丝分裂过程中，这种原始的分离机制或者已经完全不存在（其实不见得）；但是至少在很多原生生物的核分裂过程中，两种分离机制就可能全部存在。披发虫的事例就是一个强有力的证明。秋水仙素对于许多原生生物的核分裂的抑制作用都很弱（李靖炎，1979），很可能是因为同时还存在着秋水仙素所抑制不了的非纺锤体的机制。

按照李靖炎（1979）的推论，在最原始的真核生物体内，很可能就仅只存在着上述的非纺锤体式的子染色体分离机制。贾第虫的情况或许正是这一推测的证实。若果真如此，这对于有丝分裂起源问题的解决，将是极其重要的。

Wiesehahn（1984）已经指出，贾第虫的细胞周期中已经有了 M 期、G1 期、S 期、G2 期等的分化。由此令人想到，贾第虫也必有一个非常原始的细胞周期调控机制。了解这种较为简单和原始的调控机制，必定会对我们认识高等真核生物极为复杂的机制有极其重要的价值。

参 考 文 献

李靖炎，1979. 细胞在生命进化历史中的发生. 北京：科学出版社.

李靖炎，1992. 削偶合今祖法的提出. 动物学研究，13(4)：387—396.

李靖炎，1996. 双滴虫与细胞核起源问题的探索. 动物学研究，17（3）：275—286.

祝虹，卢思奇，郭增桂等，1992. 蓝氏贾第虫四川株的建立. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志，5：42—44.

Cavalier-Smith T, 1987. Eukaryotes without mitochondria. *Nature*, 326: 332-333.

Cavalier-Smith T, 1989. Eukaryotic evolution. XIV International Botanical Congress Proceedings. 213-223.

Flice F P, 1952. Studies on the cytology and life history of Giardia lamblia. Uni V. Calif. Publ. Zool., *57: 53-146.*

KuBai D F, 1973. Unorthodox mitosis in *Trichonympha* and chromosome movement. *J.Cell Science*, 13: 511-524.

Li Jing-yan(李靖炎), 1995. Characterization of *Giardia* nucleus. *Cell Research*, **5**(1): 115-124.

sogin M L, *et al*, 1989. Phyloyenetic meaning of the kingdom concept: eukaryotic rRNA from *Giardia lamblia*. *Science*, 243: 75-77.

Soloviev M, 1963. Study of the division process of *Lamblia duodenalis* in cultures. Meditsinskaia Parazitologia, **32:** 96-101.

Wiesehahn G P, *et al*. 1984. *Giardia lamblia*: auto-radiographic analysis of nuclear replication. *Exp. Parasitol*, **58:** 94-100

THE PRELIMINARY STUDY ON THE NUCLEAR DIVISION OF THE ARCHEZOAN, *Giardia lamblia* *

Shen Jianzhao Li Jingyan** Lu Siqi

(*Capital University of Medical Sciences, Beijing*, 100054)

(** *Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming*, 650223)

Abstract

Diplomonads seem to be the most primitive archezoa. In literature, almost all the studies on diplomonad nuclear division were accomplished under light microscope, Considerring the primitiveness of diplomonad nucleus, we investigated the nuclear division of cultivated *Giardia lamblia* with routine electron-microscopy preliminarily. Nuclear envelope was found to be preseved during the whole division process. Spindle or spindle microtubules were never found within dividing nucleus or cytoplasm. No condensed metaphase chromosomes were observed, although heterochromatin could occationally be seen both in dividing nucleus and in interphase nucleus.

If there is surely no spinde participating the division process, then colchcine should have no influence on this process. Our experiments showed that various concentrations of colchicine (0.1–20μg / ml), certainly had no effect on the cell division of *Giardia*.

Immuno-fluorescent microscopical detection was done with anti-tubulin antibody and it was found that no tubulin or tubulin-made structure existed in the interphase nucleus and dividing nucleus, while cytoplasm and flagella gave strong positive reaction.

The resuts described above suggested that there is no spindle formed during the nuclear division of *Giardia*. The possible significance of this phenomenon in the origin and evolution of mitosis was discussed.

Key words *Giardia lamblia*, Nuclear division, Spindle, Tubuline, Colchicine

---

* Supported by Chinese National Found ation for Natural Sciences

** The correspondent author